

(Aus dem Pathologischen Institut der Friedrich Schiller-Universität, Jena
[stellv. Direktor: Prof. *E. Schairer*].)

Lumineszenzmikroskopische Untersuchungen über die Lichtreaktion der Sehstoffe am Auge der Albinoratte¹.

Von

E. Schairer und K. Patzelt.

(Eingegangen am 22. März 1943.)

In einer früheren Arbeit haben wir die Befunde am Auge verschiedener Versuchstiere, besonders der Albinoratte ausführlich geschildert, die bei Untersuchung mit dem Lumineszenzmikroskop erhoben werden können. Wir stellten fest, daß im dunkeladaptierten Auge der Albinoratte die Sinneszellenschicht eine sattbraunrote Fluoreszenz aufweist, die wohl durch den Sehpurpur bedingt ist. Das Pigmentepithel fluoresciert leuchtend gelb. Nach Belichtung verschwindet die braune Fluoreszenz. Die Sinneszellenschicht weist nur noch eine leicht grünliche Färbung auf, während das Pigmentepithel leuchtend grün fluoresciert. Setzt man diesen grün-leuchtenden Stoff (Leuchtstoff) dem Licht (besonders dem ultraviolettten Licht) aus, so verschwindet die grüne Fluoreszenz sehr schnell. Aus diesen Eigenschaften und aus den chemischen Untersuchungen Anderer wurde geschlossen, daß der leuchtende Stoff im Pigmentepithel Vitamin A oder eine Verbindung desselben sei.

Aus unserer früheren Arbeit geht auch hervor, daß im Verlauf der Dunkeladaptation die früheren Verhältnisse am Auge wiederhergestellt werden. In einer weiteren Veröffentlichung haben wir diese Vorgänge bei Ratten mit Avitaminose bzw. Hypovitaminose A untersucht und konnten keine Veränderungen der Reaktionen und ihres zeitlichen Ablaufes, auch nicht der Adaptationszeit, gegenüber Normaltieren feststellen.

In der vorliegenden Untersuchung sind wir einer Erscheinung weiter nachgegangen, die wir in unserer ersten Arbeit schon bemerkt und kurz geschildert hatten (Versuche 110, 111 und 115, S. 136). Wir hatten festgestellt, daß auch nach Tötung einer dunkeladaptierten Albinoratte durch Belichtung des Auges die gleichen Reaktionen wie am lebenden Tier auszulösen sind. Wir fragten uns damals, ob auch der entgegengesetzte Prozeß der Dunkeladaptation am toten Tier abläuft, was an und für sich zu erwarten gewesen wäre, da nach Angaben des Schrifttums in der Dunkelheit eine Regeneration von Sehpurpurlösungen vor sich geht. Es ergab

¹ Herrn Professor Dr. *A. Dietrich* zum 70. Geburtstag gewidmet.

Ta-

Vers. Nr.	Gewicht in g	Geschlecht	1. Auge				
			Behandlung	Netzhautfarbe (n. <i>Garten</i>)	Pigmentepithel (Durchschnitt)	Sinneszellen- schicht	Pigmentepithel (Aufsicht)
1	130	♂	90 Sek. belichtet, sofort untersucht	E 9	leuchtend gelb mit grünl. Ton	mittelbraun	Spuren
2	125	♀	90 Sek. belichtet, sofort untersucht	E 10	gelb	dunkelbraunrot	Ø
3	105	♀	90 Sek. belichtet, sofort untersucht	E 10	gelb	dunkelbraunrot	Ø
4	155	♂	90 Sek. belichtet, sofort untersucht	E 10	hellgelb	mittelbraun	Ø
5	135	♂	120 Sek. belichtet, sofort untersucht	D 12	gelb mit grünl. Ton	dunkelbraunrot	Spuren
6	105	♂	90 Sek. belichtet, sofort untersucht	E 12	leuchtend gelb mit grünl. Ton	dunkelbraunrot	Spuren
7	115	♀	30 Sek. belichtet (Sonne), sofort untersucht	E 10	gelb	mittelbraun	Ø
8	105	♀	30 Sek. belichtet, sofort untersucht	D 12	gelb	dunkelbraun	Ø
9	105	♂	10 Sek. belichtet, sofort untersucht	C 6		dunkelbraun	Ø
10	95	♂	10 Sek. belichtet, sofort untersucht	C 6	gelb mit grünl. Ton	dunkelbraun	Spuren
11	60	♂	2 Sek. belichtet (Sonne), sofort untersucht	C 8	gelb mit grünl. Ton	dunkelbraun	Ø
12	65	♂	2 Sek. belichtet (Sonne), sofort untersucht	C 6	gelb	dunkelbraun	Spuren
13	95	♀	nach Tötung 125 Min. im Dunkeln, 90 Sek. belichtet, sofort untersucht	E 10	gelb	dunkelbraun	Ø
14	85	♀	nach Tötung 138 Min. im Dunkeln, 5 Min. Sonne, sofort untersucht		gelb mit grünl. Ton	blaß-mittelbraun	Ø
15	60	♂	Kontrolle, unbelichtet, sofort nach Tötung untersucht	C 6	gelb	dunkelbraun	Ø

Die Netzhautfarbe ist nach der Tafel von *Garten*, Graefes Arch. 63,112 (1906) angegeben. Der Farbton wird durch A—F (blaurot bis gelb), die Farbintensität durch die Zahlen bezeichnet, wobei 1 die größte Intensität bedeutet. — In den Spalten „Pigmentepithel (Aufsicht)“, „Leber“ und „Nebenniere“ bedeutet 0 Fehlen des Leuchtstoffs, III stärkste Intensität. Hierzu siehe auch unsere früheren Veröffentlichungen. — * Bei Zeitangabe bedeutet „im Dunkeln“.

sich nun, daß am Auge der getöteten Ratte, wenn es kurz vor oder nach dem Tode belichtet worden war, in der Dunkelheit nicht nur keine Regeneration einsetzte, sondern die Prozesse, die durch die Belichtung eingeleitet

beile 1.

Behandlung	2. Auge				Leber	Neben- niere
	Netzhaut- farbe (n. Garten)	Pigment- epithel- (Durch- schnitt)	Sinnes- zellen- schicht	Pigment- epithel- (Aufsicht)		
90 Sek. belichtet, nach 25 Min.* untersucht	D 12	leuchtend grüngelb	blaß- braun	I—II	0—I	I—II
90 Sek. belichtet, nach 45 Min.* untersucht	E 9—10	grüngelb	blaß- gelb	I	0—I	0—I
90 Sek. belichtet, nach 60 Min.* untersucht	F 12	grün		I	0—I	0—I
90 Sek. belichtet, nach 60 Min.* untersucht	E-F 12	leuchtend grün mit gelbem Ton	grünlich	I	∅	∅
120 Sek. belichtet, nach 95 Min.* untersucht	F 12	grün mit gelbl. Ton	farblos	I	0—I	0—I
90 Sek. belichtet, nach 160 Min.* untersucht	F 15	leuchtend grün	farblos	I—II	IIa	0—I
30 Sek. belichtet (Sonne) nach 28 Min.* untersucht	E 10	grüngelb	blaß- braun	I	I—II	I—II
30 Sek. belichtet, nach 60 Min.* untersucht	F 15	leuchtend grün	un- gefärbt	II	I	I
10 Sek. belichtet, nach 45 Min.* untersucht	C 10	grüngelb	dunkel- braun	Spuren	0—I	0—I
10 Sek. belichtet, nach 105 Min.* untersucht	E 15	grün	blaß	0—I	I	0—I
2 Sek. belichtet, nach 110 Min.* untersucht	C 9	grüngelb	mittel- braun	∅	0—I	0—I
2 Sek. belichtet, nach 240 Min.* untersucht	C 10	grüngelb	mittel- braun	∅	∅	∅
nach Tötung 125 Min. im Dunkeln, 90 Sek. belichtet, nach 80 Min.* untersucht	blaß	gelb mit grünl. Ton	hell- braun	∅	I	0—I
Nach Tötung 138 Min. im Dunkeln, 5 Min. Sonne, nach 67 Min.* untersucht	E 12	grüngelb	blaß- braun	I	0—I	0—I
Kontrolle, unbelichtet, 135 Min.* nach Tötung untersucht	C 6	gelb	dunkel- braun	∅	0—I	0—I

waren, noch weiter fortschritten. Z. B. fanden wir im ersten Auge des Tiers 115, das 90 Sekunden belichtet worden war und anschließend sofort untersucht wurde, eine gelbrote Farbe der Netzhaut. Leuchtstoff war im Pigmentepithel nur in Spuren nachweisbar. Im zweiten Auge, das ebenfalls 90 Sekunden Licht bekommen hatte, aber anschließend 7 Stunden 35 Minuten im Dunkeln gelegen hatte, war die Netzhaut weiß, im Pigmentepithel fand sich sehr reichlich Leuchtstoff.

Um diese Erscheinung in einer größeren Versuchsreihe zu bestätigen und ihren zeitlichen Verlauf kennenzulernen, stellten wir die in der vor-

liegenden Mitteilung zusammengefassten Versuche an. In den Versuchen 1—6 der Tabelle 1 wurden die dunkeladaptierten Tiere sofort nach der Tötung 90 Sekunden (im Versuch 5 120 Sekunden) dem hellen Tageslicht (im Versuch 1 der Wintersonne) ausgesetzt, so daß die offenen Augen belichtet wurden. Ein Auge wurde sofort untersucht, das andere im Tier belassen, das anschließend 25—160 Minuten ins Dunkle gelegt wurde. Dann wurde das 2. Auge ebenfalls untersucht (wegen der Methode verweisen wir auf unsere früheren Arbeiten). Während die sofort untersuchten Augen bei der lumineszenzmikroskopischen Untersuchung im Pigmentepithel vorwiegend gelbe Farbtöne aufwiesen (s. Tabelle 1), war bei den später untersuchten Augen derselben Tiere dieses gelbgrün bis leuchtend grün. Umgekehrt hatte sich der Farbton der Sinneszellenschicht von einem mittleren bis dunkeln Braunrot in farblos bis blaßbraun umgewandelt. Makroskopisch war nur eine geringe Veränderung des Farbtons der Netzhaut zu sehen, am stärksten noch bei Versuch 6, bei dem die Zeitspanne zwischen Untersuchung des 1. und 2. Auges am längsten (160 Minuten) gewesen war. Im übrigen geht aus diesen 6 Versuchen hervor, daß schon nach 25 Minuten die Erscheinung deutlich wahrzunehmen war, daß aber die höchsten Grade mit Farblosigkeit der Sinneszellenschicht und leuchtend grüner Fluoreszenz des Pigmentepithels erst nach 95 Minuten bzw. später erreicht wurden.

Außerdem ist zu bemerken, daß Tier 4 seit über 3 Monaten Vitamin-A-frei ernährt worden war. Trotzdem verlief die Reaktion ganz entsprechend wie bei dem Vergleichstier 3. Es war also bei diesem Reaktionsablauf ebensowenig ein Unterschied gegenüber den Normaltieren festzustellen, wie bei der Dunkeladaptation beim lebenden Tier (s. o.).

Nachdem wir durch die bisherigen Versuche den Reaktionsablauf bei einer Belichtung von 90 Sekunden kennengelernt hatten, verkürzten wir in den folgenden die Belichtungszeit auf 30, 10 und 2 Sekunden, wobei wir, wie schon in den ersten Versuchen, zur Belichtung meist das helle Tageslicht, im Falle 7, 11 und 12 die Wintersonne, benützten. Wie aus der Tabelle 1 hervorgeht, verlaufen die Reaktionen bei 30 Sekunden langer Belichtung (Versuch 7 und 8) ebenso schnell und stark wie bei einer Belichtung von 90 Sekunden.

Dagegen ist im Versuch 9 nach 10 Sekunden langer Belichtung im diffusen Tageslicht das zweite Auge, das noch 45 Minuten im Dunkeln gelegen hat, kaum gegenüber dem ersten verändert. Bei dem Versuch 10, bei dem das zweite Auge 105 Minuten im Dunkeln war, dagegen ist der Unterschied im Befund beider Augen wieder ganz ausgeprägt. Vor allem ist hier ein deutlicher Unterschied auch schon makroskopisch an der Farbe der Netzhaut wahrzunehmen, da die Belichtung im Anfang nur sehr gering ist und daher der Sehpurpur zunächst nur wenig verändert wird. Auffallend ist auf der anderen Seite, daß trotz starken Ablassens der Netzhaut und damit fast völliger Zerstörung des Sehpurpurs die entstandene

Leuchtstoffmenge im Pigmentepithel relativ gering ist. Diese Beobachtung stimmt mit unseren früheren Wahrnehmungen überein, daß unter bestimmten Umständen die beiden Vorgänge nicht völlig parallel verlaufen. Wahrscheinlich handelt es sich eben um eine Kette von Reaktionen, von der nur beide Enden mit dem Lumineszenzmikroskop wahrnehmbar sind.

Nachdem schon bei der Belichtung von 10 Sekunden eine deutliche Verlangsamung des Reaktionsablaufes gegenüber den früheren Beobachtungen eingetreten war, erwarteten wir eine noch stärkere Verzögerung nach einer Belichtungszeit von 2 Sekunden, wobei wir allerdings das intensivere Licht der Wintersonne einwirken ließen. Immerhin konnten wir selbst in diesen Versuchen (11 und 12 der Tabelle 1) in dem zweiten Auge, das 110 bzw. 240 Minuten nach der Belichtung untersucht wurde, deutliche Veränderungen gegenüber dem ersten Auge nachweisen. Die Farbe des Pigmentepithels war von einem reinen Gelb in Gelbgrün übergegangen, die Farbe der Sinneszellenschicht von einem dunklen in ein helleres Braun. Größere Mengen von Leuchtstoff waren allerdings nicht nachweisbar.

Natürlich war der Einwand zu erheben, daß vor allem die zuletzt aufgeführten relativ geringen Reaktionen im Bereich der normalen Schwankungsbreite liegen könnten und daß vielleicht auch bei unbelichteten Augen eine gewisse Reaktion im beschriebenen Sinne eintreten könne. Dies ist jedoch schon nach den Feststellungen in unserer früheren Arbeit (Versuch 106 und 109 S. 132) abzulehnen. Für alle Fälle haben wir noch einen Kontrollversuch (15) durchgeführt, bei dem das eine dunkeladaptierte Auge sofort, das andere 135 Minuten nach der Tötung untersucht wurde, ohne daß eine Belichtung vorgenommen war. Der Befund ist auf beiden Augen, wie erwartet, ganz gleich.

Die Art der Tötung der Tiere hatte, wie wir feststellten, ebenfalls keinen Einfluß auf den Reaktionsablauf. In den Versuchen 2, 5 und 6 der Tabelle 1 wurden die Tiere durch Nackenschlag getötet, bei den übrigen Tieren wurde die Tötung durch Äther vorgenommen, ohne daß irgendwelche Unterschiede nachzuweisen waren.

Eine weitere Frage, die wir klären wollten, war die, ob die geschilderten Reaktionen nur nach Lichteinfall sofort nach Tötung des Tieres abliefen, oder ob sie auch noch später auszulösen waren. Zur Entscheidung wurden die Versuche 13 und 14 angestellt. Die dunkeladaptierten Tiere wurden getötet und dann über 2 Stunden im Dunkeln gelassen. Anschließend wurden die Augen 90 Sekunden bzw. 5 Minuten belichtet, eines sofort untersucht, das andere im Tier gelassen, das erneut 80 bzw. 67 Minuten lang in die Dunkelheit gebracht wurde. Aus der Tabelle 1 geht hervor, daß zwar noch eine gewisse Reaktion der Augen in der erwarteten Richtung auftrat, jedoch längst nicht so stark wie bei sofort nach der Tötung belichteten Tieren. Dies könnte mit den inzwischen einsetzenden

Ta-

Vers. Nr.	Gewicht in g	Geschlecht	1. Auge				
			Behandlung	Netzhautfarbe (n. Garten)	Pigmentepithel- (Durchschnitt)	Sinneszellen- schicht	Pigmentepithel- (Aufsicht)
16	70	♀	3 Min. belichtet, enukleiert, 27 Min. bei Zimmertemperatur im Dunkeln	E 8—9	grün	blaß-braun	I
17	105	♀	3 Min. belichtet, enukleiert, 27 Min. bei Zimmertemperatur im Dunkeln	E 8—9	grün	blaß-braun	I
18	110	♂	90 Sek. belichtet, sofort untersucht	D 12	gelb mit grünl. Ton	mittel-braun	Spuren
19	63	♂	90 Sek. belichtet, sofort untersucht	E 15	grüngelb	blaß-mittel-braun	
20	80	♂	90 Sek. belichtet, enukleiert, in Augenhöhle zurück, 100 Min. bei Zimmertemperatur im Dunkeln	blaß	grüngelb	mittel-braun	
21	105	♂	90 Sek. belichtet, enukleiert, in Augenhöhle zurück, 85 Min. bei Zimmertemperatur im Dunkeln	E 12	grüngelb	hellbraun	∅
22	90	♂	90 Sek. belichtet, enukleiert, in Augenhöhle zurück, 145 Min. bei Zimmertemperatur im Dunkeln	E 10	grüngelb	blaß-braun	
23	75	♂	90 Sek. belichtet, nicht enukleiert, 110 Min. im Dunkeln	blaß	leuchtend grün	farblos	II

Erklärung s. bei Tabelle 1.

postmortal-autolytischen Vorgängen zusammenhängen, die ja gerade am Auge sehr früh eintreten, es könnte aber auch eine Folge der Abkühlung sein. Der Zerfall des Sehgelbs, eines Abbauprodukts des Sehpurpurs soll nach den Angaben des Schrifttums zwar unabhängig vom Licht, aber abhängig von der Temperatur erfolgen. So war es denkbar, daß auch unsere Reaktion eine Abhängigkeit dieser Art zeigte.

In weiteren Versuchen (Tabelle 2) haben wir die Temperaturabhängigkeit der oben geschilderten Vorgänge geprüft. Dabei stellte sich eine Schwierigkeit heraus, deren wir bisher nicht ganz Herr werden konnten: Will man ein Rattenauge schnell auf niedrige Temperaturen, z. B. auf Eis, bringen, so muß man es enukleieren. Die Enukleation an und für sich führt jedoch auch schon zu einer Hemmung des Reaktionsablaufes, wie wir ihn oben schilderten. Dies geht aus dem Vergleich der Versuche 16 und 19 der Tabelle 2 mit den Versuchen 6 und 3 der Tabelle 1 hervor, sowie aus Beobachtungen, die wir in unserer früheren Arbeit niederlegten. Ob diese Wirkung auf die Abkühlung allein zurückzuführen ist, die auch

belle 2.

Behandlung	2. Auge				Leber	Neben- niere
	Netz- haut- farbe (n. <i>Garten</i>)	Pigment- epithel- (Durch- schnitt)	Sinnes- zellen- schicht	Pigment- epithel- (Aufsicht)		
3 Min. belichtet, enukleiert, 122 Min. bei Zimmer- temperatur im Dunkeln	F 10	leuchtend grün	blaß- grünlich	I	I	I
3 Min. belichtet, enukleiert, 122 Min. auf Eis im Dunkeln	E 10	grün	blaß- braun	I	I	I
90 Sek. belichtet, enukleiert, 65 Min. auf Eis im Dunkeln	E 16	grün	blaß- braun	0—I	II	I—II
90 Sek. belichtet, enukleiert, 65 Min. bei Zimmer- temperatur im Dunkeln	E 14	leuchtend grün	blaß- braun	I—II	I—II	I
90 Sek. belichtet, enukleiert, 105 Min. auf Eis im Dunkeln	B 12	gelb mit grünl. Ton	mittel- dunkel- braun	∅	II	II
90 Sek. belichtet, enukleiert, 95 Min. auf Eis im Dunkeln	D 10	leuchtend grün	mittel- braun	∅	0—I	I
90 Sek. belichtet, enukleiert, 155 Min. auf Eis im Dunkeln	C 15	grüngelb	mittel- dunkel- braun		I	0—I
90 Sek. belichtet, enukleiert, 125 Min. auf Eis im Dunkeln	D 10	grüngelb	mittel- dunkel- braun	Spuren	I	I

bei der Eukleation erfolgt, die aber durch sofortiges Zurückbringen des Auges in die Höhle weitgehend vermieden wurde oder ob hier andere, vielleicht nervöse, Faktoren eine Rolle spielen, konnten wir nicht klären.

Die Versuche 16 und 17 sowie 18 und 19 wurden je gleichzeitig ausgeführt und sind als Parallelversuche anzusehen. In Versuch 16 und 17 wurden die dunkeladaptierten Tiere getötet, dann 3 Minuten belichtet und anschließend die Augen enukleiert und 3 davon bei Zimmertemperatur im Dunkeln aufbewahrt. Das vierte Auge (Versuch 17) wurde in den verdunkelten Eisschrank gebracht. Nach 27 Minuten wurde ein Auge von jedem Tier untersucht, das zweite Auge, darunter auch das Kälteauge, nach 122 Minuten. Tatsächlich schien durch die Kälte eine gewisse Hemmung der Abläufe erzielt worden zu sein; doch war sie nicht sehr erheblich. Auch bei der zweiten Versuchsgruppe (Versuche 18 und 19), bei der nur 90 Sekunden lang belichtet wurde und das erste Auge sofort, das zweite nach 65 Minuten untersucht wurde, war ein deutlicher Unterschied nicht wahrzunehmen. Deshalb wurden in den folgenden Versuchen ein Auge eines Tieres in der Wärme, das zweite Auge desselben Tiers in der

Kälte, natürlich bei Dunkelheit, eine gleiche Zeit nach der Belichtung von 90 Sekunden aufbewahrt. Hier ergab sich eine deutlichere Hemmung der Abläufe durch die Kälte, die in den Versuchen 20—22 wahrscheinlich noch stärker zum Ausdruck gekommen wäre, wenn das Vergleichsauge nicht hätte enukleiert werden müssen (s. o.). Im Versuch 23 wurde deshalb das Vergleichsauge im Tier gelassen und so ein besonders deutlicher Unterschied erzielt, der aber wiederum vielleicht zum Teil auf die gleichzeitige E nukleation des Kälteauges durchzuführen ist. Immerhin glauben wir mit Sicherheit sagen zu können, daß durch die Kälte die oben geschilderten Reaktionsabläufe gehemmt werden. Dies scheint sowohl für die Vorgänge in der Sinneszellenschicht wie im Pigmentepithel zu gelten.

Zusammenfassung.

Im Anschluß an frühere mit dem Lumineszenzmikroskop am Auge der Albinoratte erhobenen Befunde untersuchten wir die Reaktionen, die bei toten dunkeladaptierten Tieren nach kurzer Belichtung und anschließendem Aufbewahren in der Dunkelheit sich abspielen. Während beim lebenden Tier sofort nach der Belichtung der Prozeß der Regeneration des Schpurgurs eintritt und die bei der Belichtung entstandenen Vorgänge rückgängig macht, gehen beim toten Tier die durch die Belichtung bedingten Prozesse trotz Aufenthalt in der Dunkelheit bis zu einem Endstadium weiter. Dieses wird bei nicht zu kurzer Belichtung in 1—2 Stunden erreicht. Selbst eine Belichtung von 2 Sekunden Dauer, deren unmittelbare Wirkung im Lumineszenzmikroskop überhaupt nicht nachzuweisen ist, führt im Laufe der nächsten Stunden zu einer deutlichen Reaktion, während ein nicht belichtetes, dunkeladaptiertes Auge, wenn es nach Tötung des Tiers im Dunkel gehalten wird, viele Stunden lang unverändert bleibt.

Die geschilderte Reaktion tritt in der gleichen Stärke bei Vitamin-A-frei ernährten Tieren ein. Dagegen ist sie bei Tieren abgeschwächt, die schon vor längerer Zeit (einige Stunden) getötet wurden. Eine Hemmung der Reaktion wird auch durch E nukleation des Bulbus und durch Kältewirkung erzielt.

Schrifttum.

Schairer u. Patzelt: Virchows Arch. 307, 124 (1940). — Graefes Arch. 144, 416 (1942). (Weitere Literaturangaben siehe dort.)
